

## 論文審査の結果の要旨

## Evaluation of liquid biopsies for detection of emerging mutated genes in metastatic colorectal cancer

リキッドバイオプシーを用いた大腸癌肝転移における新規遺伝子変異の同定

日本医科大学大学院医学研究科 消化器外科学分野  
研究生 古木裕康

European Journal of Surgical Oncology (2018 年掲載予定)

がんの遺伝子変異の検出は分子標的療法において重要である。原発巣とその転移巣では遺伝子変異はほぼ一致するが、転移巣には原発巣にない新たな変異（新規遺伝子変異）が出現する可能性がある。末梢血内の循環腫瘍 DNA (circulating tumor DNA (ctDNA)) を用いて分子診断を行うリキッドバイオプシー (Liquid Biopsy (LB)) は、低侵襲で繰り返し行えることで、診断や治療選択、治療効果判定等に応用されることが期待されている。申請者らは、大腸癌原発巣と肝転移巣のゲノム不均一性を LB で同定することを試み、さらに次世代シーケンシング (Next-Generation Sequencing (NGS)) とデジタル PCR (digital PCR (dPCR)) の精度を比較した。

対象は同時性または異時性肝転移を有し手術を施行した 22 例の大腸癌患者である。原発巣および肝転移巣の凍結組織から DNA を抽出し、肝切除前に採取した血漿から ctDNA を抽出した。これら 3 種類の検体を用いて、NGS と dPCR により大腸癌関連の体細胞変異を検出し、新規遺伝子変異を同定できるかを検討した。

NGS において、22 例から 7 遺伝子 23 種 36 個の体細胞変異を検出した。最も頻度が高かったのは *TP53* であり、次いで *KRAS*、*APC*、*PIK3CA*、*BRAF*、*FBXW7*、*NRAS* の順であった。2 例から 4 個の新規遺伝子変異を認め、そのうち 2 例 1 例は ctDNA から検出された。dPCR においても、同様の 36 個の体細胞変異を同定した。2 例 4 個の新規遺伝子変異を認め、その全てが ctDNA から検出可能であった。NGS と dPCR を比較すると、肝転移巣に存在した変異の ctDNA による感度は NGS が 64%、dPCR が 89% と dPCR で有意に高かった ( $P=0.02$ )。

以上の結果から、申請者らは大腸癌原発巣と肝転移巣の凍結標本と ctDNA の検討により、1) 肝転移巣には原発巣にはない新規遺伝子変異が存在し、その変異は LB を用いて検出することができる、2) 新規遺伝子変異を LB で検出する時の感度は NGS よりも dPCR の方が良好である、という 2 つの重要な点を明らかにした。

第二次審査では、上記実験内容に加え、右側結腸と左側結腸での遺伝子変異の差異、NGS と dPCR の使い分け、腫瘍マーカーとの関連などについて幅広い質疑が行われたが、いずれも的確な回答がなされた。

本研究は大腸癌およびその肝転移における新規遺伝子変異を NGS および dPCR による LB で同定し、その重要性を初めて確認したもので、大腸癌分子標的療法の発展に寄与するものと考えられた。以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。